

# Perspectivas para el uso de Marcadores Moleculares en el Mejoramiento del Frijol

Steve Beebe y Fabio Pedraza

Proyecto Frijol CIAT, Cali, Colombia

## RESUMEN

Los marcadores moleculares son la herramienta más novedosa para el mejoramiento de cultivos en los últimos años. En el caso de frijol (*Phaseolus vulgaris* L) ya existen una gama amplia de marcadores de ADN para caracteres útiles. Para poder utilizar estos marcadores en forma efectiva y eficiente, los mejoradores tienen que encontrar los puntos en sus programas de mejoramiento donde la aplicación de los marcadores será más productiva en relación al costo.

Se discuten tres posibles modos de emplear la Selección Asistida por Marcadores (SAM): en las retrocruzas, inclusive para caracteres controlados por hasta 4 genes; en la Selección Gamética; y en generaciones tempranas para selección negativa para eliminar plantas que ya han fijado alelos no-deseables. Se mencionan unas áreas de trabajo que aún faltan para desarrollar para implementar la SAM efectivamente.

## ABSTRACT

Molecular markers are the most novel breeding tool to be developed in recent years. In the case of common bean (*Phaseolus vulgaris* L), there exists already a wide range of DNA markers for useful characters. To be able to use these markers effectively and efficiently, bean breeders need to find the critical points in their breeding programs where the application of markers will be most productive in relation to the cost. Three modes of applying Marker Assisted Selection (MAS) are discussed: in backcrossing, including traits controlled by up to four genes; in gametic selection;

and in early generation negative selection, to eliminate plants that have already fixed undesirable alleles. Several areas of future work are mentioned.

## INTRODUCCION

Los marcadores moleculares de ADN han sido la novedad más revolucionaria en el mejoramiento de plantas en los últimos 20 años. Si bien no han demostrado todavía un amplio impacto práctico, pues en las posibilidades que abren han estimulado los mejoradores a pensar mucho más allá de la selección fenotípica que ha sido la base de su profesión hasta ahora.

Sus ventajas y usos potenciales han sido citados con más frecuencia de lo que se han realizado. Estos incluyen: la selección de caracteres sin la necesidad de probar materiales en el campo bajo un ambiente particular para lograr la expresión del fenotipo buscado; selección segura de caracteres que en el campo presentan gran variabilidad ambiental y baja heredabilidad; selección de varios caracteres en un sistema común; la posibilidad de piramidar genes de resistencia en combinaciones que al contrario serían difíciles de reconocer por fenotipo.

Mientras la realización de estas ventajas ha sido lenta en manifestarse, la ciencia de la biología molecular y los marcadores moleculares está avanzando rápidamente, y dentro de unos años veremos sin duda muchas de estas expectativas cumplidas. Sin embargo, se cumplirán no porque un biotecnólogo lo haya hecho, sino porque los mejoradores hemos sido lo suficiente imaginativos para encontrar donde y como aplicar los

marcadores en nuestros programas de mejoramiento. Tenemos que buscar los puntos claves en los programas de selección donde los marcadores puedan aplicarse eficientemente, o bien, tenemos que estructurar nuestros programas para aprovechar la potencial de los marcadores.

Por cierto, los marcadores tienen sus limitaciones. Son trabajosos para identificar. Ante todo, todos los marcadores de ADN hasta ahora son en uno u otro grado costosos. Algunos, especialmente los RAPDs (ADN Polimórfico Amplificado Aleatoriamente) dan resultados variables cuando las condiciones de laboratorio varían. Pero quizás el limitante más importante para su uso práctico y amplio es la necesidad de que el polimorfismo (es decir, la presencia o ausencia de una banda de ADN, o una diferencia en peso de una banda) sea detectable en relación a los demás padres con los cuales la fuente de un carácter será cruzado. Si un marcador de un gen (ó un alelo, como es el caso muchas veces) existe en otros padres que no tienen el gen/alelo, entonces el marcador no sirve para reconocer la presencia del gen/alelo. En este sentido, polimorfismos que distinguen acervos y razas de frijol son útiles para introgresar genes de un acervo o raza a otro. Por ejemplo, un marcador de un gen de resistencia derivado del acervo andino probablemente servirá ampliamente dentro del acervo mesoamericano. También, es muy útil que los marcadores sean mapeados en relación a otros marcadores cercanos en el genoma, para que estos otros marcadores puedan servir de opción para marcar el gen, pues entre varios marcadores alguno pueda expresarse como polimórfico en las combinaciones de padres utilizados.

La mayoría de los caracteres para los cuales hay marcadores identificados son controlados por genes mayores, y muchos son de resistencias. Los caracteres de genes menores o cuantitativos son por su naturaleza más problemáticos para marcar por varios razones: datos confiables de campo que son esenciales para identificar marcadores son más difíciles de conseguir, ya que la expresión de estos genes es menos estable; la

identificación de marcadores ligados a genes múltiples requiere más trabajo; los modelos matemáticos para identificarlos son más complejos. Pero lo peor de todo es que, habiendo terminado el trabajo de marcar los genes, a veces no hay ningún gen que es tan importante para que valga la inversión de dinero de seleccionarlo con los marcadores. Si este es el caso, y bien puede ocurrir, entonces uno pierde el esfuerzo de haber marcado los genes. Los llamados QTL (Loci de Carácter Cuantitativo) son un desafío particular en la ciencia de marcar genes e implementar los marcadores.

Un último punto general en relación a los marcadores es su característica de dominancia o co-dominancia. En términos prácticos, la significancia de dominancia o co-dominancia de los marcadores es el poder de distinguir el estado homocigoto o heterocigoto de un gen cercano.

Es decir, algunos marcadores pueden distinguir entre un homocigoto AA y un heterocigoto Aa, y otros no. Los RFLPs tienen esta capacidad y por tanto son co-dominantes. La mayoría de los RAPDs no lo tienen y son dominantes, pues los dos genotipos AA y Aa producen la misma banda única, aunque algunos RAPDs si producen dos bandas co-dominantes reflejando la presencia de los dos alelos A y a. La lista de RAPDs co-dominantes está creciendo, y quizás algún día será lo suficiente grande de representar una buena parte del genoma.

## UN INVENTARIO DE GENES Y MARCADORES

El frijol es un cultivo de menor importancia en los países desarrollados, sin embargo ha recibido mucha atención en cuanto a marcadores moleculares. Esto puede tener varias razones. Primero, siendo un cultivo anual de corto ciclo, el frijol se presta para estudios genéticos de todo tipo. Segundo, el frijol es notoriamente susceptible a patógenos, por tanto es atractivo para marcar genes de resistencia que muchas veces son genes mayores y relativamente fácil de marcar. Tercero, los acervos y razas de frijol permiten bastante polimorfismo para estudios de ADN.

Los primeros trabajos mayores con marcadores de ADN en el frijol fueron la creación de mapas basados en RFLPs (Nodari et al, 1993; Vallejos et al, 1992). Algunos genes de interés agronómico estaban segregando en estas poblaciones, sin embargo, no hay informe de que los marcadores generados en estas poblaciones se están utilizando en el mejoramiento. Estos mapas sirvieron principalmente para establecer los grupos de ligamiento con marcadores en forma de sondas que fueron reproducibles.

Estos mapas fueron seguidos por esfuerzos de marcar genes para caracteres específicos. El primer marcador RAPD reportado en frijol para un gen de resistencia fue consignado por Miklas et al (1993) y pronto siguieron muchos otros (Freyre et al, in press).

En la Tabla 1, se encuentra un resumen de los genes reportados para caracteres importantes en el mejoramiento del frijol negro para Centroamérica. En la primera columna está identificado el carácter, seguido en la segunda columna por el número de genes relacionado con ese carácter. En unos casos el número de genes se deduce de patrones de segregación, en otros casos se deduce precisamente de los trabajos con marcadores y el análisis de QTLs. El propósito de este cuadro es fijar unos parámetros dentro de los cuales podemos pensar en términos realistas del número de genes con los cuales trabajamos. Para este conjunto de caracteres, vemos que se ha identificado unos 66 genes. Aunque este listado no es exhaustivo, sí incluye la mayoría de los caracteres de interés práctico para Centroamérica. La tercera columna representa los genes para los cuales existen algún tipo de marcador molecular. Se ve por ejemplo que hay marcadores para 7 de los 9 genes de resistencia a roya, y 5 de los 7 genes reconocidos para antracnosis. Incluyendo los marcadores para QTLs, que por cierto definen la existencia del gen, hay un total de unos 50 marcadores asociados con los genes. Para un cultivo de importancia secundaria, este es un número muy sustancial.

Algunas de los marcadores representados en

Tabla 1 han sido desarrollados dentro de la colaboración con PROFRIJOL. Utilizando en la cruz de DOR 364 x G19833, se ha creado un mapa basado en RAPDs, AFLPs y sondas de RFLPs. Esta población segrega por varios caracteres que son útiles en Centroamérica: raíces eficientes y absorción de fósforo; resistencia a BG M V (evaluado en Puerto Rico y en CIAT); resistencia a antracnosis; resistencia a mancha angular. Esperamos poder emplear los marcadores en la selección pronto.

En la cuarta columna aparece el número de marcadores tipo SCAR de los cuales tenemos conocimiento hasta ahora. Los SCARs son un tipo de marcador como RAPDs en el sentido que emplean el proceso de PCR (Reacción de Polimerasa encadenada). Sin embargo, los SCARs son más estables y permiten mayor confianza que los RAPDs, de los cuales los SCARs son frecuentemente derivados. En muchos casos, es necesario de convertir los marcadores RAPDs (u otros) en SCARs para que su uso sea factible en una escala grande con confianza. Los ASAP son una modificación de los SCARs que permiten obviar el paso de electroforesis.

### **ESPECULACIONES SOBRE EL MEJORAMIENTO**

Antes de considerar la aplicación de marcadores en sí, debemos reflexionar sobre las implicaciones del número de genes con los cuales estamos trabajando. Esto no es una reflexión que es única al caso de marcadores, pues tiene relevancia a cualquier sistema de mejoramiento que empleamos, con o sin marcadores. Sin embargo, el hecho de haber identificado genes o QTLs da más realismo al caso, pues estamos hablando de genes que realmente quisiéramos reunir en un genotipo ideal.

La última columna de Tabla 1 está encabezada "Mínimo número de genes necesarios". Estas cifras son especulativas y representan un intento de estimar que es el número mínimo de genes deseables que son requeridos en la "Variedad

perfecta". Por ejemplo, para resistencia a antracnosis, aunque hay unos siete genes identificados, hay combinaciones de dos genes que conceden resistencia universal a toda raza de *Colletotrichum*. Por tanto, fijamos dos como el número mínimo de genes para resistencia a antracnosis. Obviamente quisiéramos tener más seguridad, pero dos genes son el mínimo para lograr esa resistencia universal. En unos casos como para la eficiencia en uso de fósforo, no hay información sobre el número de genes. En tales casos se ha incluido una cifra que es más bien conservador, por ejemplo, que se requieren dos genes mínimos para tolerancia a sequía.

De nuevo, el propósito de este ejercicio es de fijar unos parámetros realistas dentro de los cuales podemos orientar el trabajo de selección, incluyendo el uso de marcadores.

Al sumar el número mínimo de genes, nos da un total de 25 genes. ¿Qué implica tal número de genes para el trabajo de mejoramiento? Supongamos que tuviéramos una población F2 segregando para estos genes, cada uno en proporción de 50%, y llevamos esta población a generaciones avanzadas por Descendencia de Semillas Unicas. ¿Qué es la probabilidad de encontrar una sola planta con todos los genes, y qué tamaño de población necesitaríamos para encontrar esa planta ? Esto equivale a  $(1/2)^{25}$ , es decir, 1 en 33,554,432. Tal población ocuparía unos 168 ha!

El mensaje es sencillo: con un número elevado de genes segregando en las progenies, la probabilidad es muy baja de reunir todos los genes en una sola línea. Por tanto hay que recurrir a formas de aumentar estas probabilidades, y hay casos donde los marcadores moleculares pueden ser una herramienta útil para este fin.

**Tabla 1:** Resumen de algunos genes reportados para caracteres útiles en el frijol, y los marcadores asociados con algunos de ellos.

Algunos caracteres útiles	Número de genes identificados (incluyendo QTL)	Genes marcados	Marcadores SCARs	Mínimo número de genes necesarios
<b>RESISTENCIAS</b>				
<b>Hongos</b>				
Roya	9 [c]*	4 [j,k,r,n]	1 [Q]	1
antracnosis	7 [c]	4 [a,b,g,A']	2 [a,q]	2
mancha angular	-	-		2
Macrophomina	2 [x]	2 [x]		1
Mustia	5 [n]	5 [n]		
Fusarium oxysporum	2 [c]	-		
<b>Bacteria</b>				
Xanthomonas	8 [v], 5-7 [n]	8 [v], 5-7 [n]	2 [e,o]	2
<b>Virus</b>				
BCMV	5 [c]	2 [k,l,m]	2 [m,q]	1
BGMV	4 [s,t,y]	3 [s,y]	1 [e]	3
Rugoso	2 [c]	-		
<b>Nem atodos</b>				
	3 [c]	-		
<b>Insectos</b>				
Zabrotes	1 [c]	1 [g]		1
Apion	1 [d]	1 [d]	1 [d]	1
Empoasca	-			

## FACTORES ABIOTICOS

Nodulación	7 [v]	7 [v]		
FBN	5 [e]	5 [e]		3
Raíces/absorción P	7 [e]	7 [e]		4
Eficiencia P	-	-		2
Sequía	9 [w]	9 [w]		2
Fotoperiodo	2 [c]	2 [h,i]		
Tolerancia bajo hierro	2 [c]	-		
Eficiencia potasio	1 [c]			
<b>TOTAL</b>	<b>82</b>	<b>60</b>	<b>9</b>	<b>25</b>

\* Letras se refieren a citaciones en la bibliografía

## EL USO DE MARCADORES MOLECULARES

Un buen uso de marcadores en un sistema práctico de mejoramiento, es decir, para Selección Asistida por Marcadores (SAM), tiene que tomar en cuenta la eficiencia del sistema, refiriendo al costo de los marcadores. Hay que encontrar los puntos en el programa de mejoramiento donde los marcadores pueden tener un impacto importante en aumentar a las probabilidades de encontrar los genotipos deseados, sin que el costo sea excesivo. Este es el reto que tendremos que enfrentar muy pronto. Tomaremos tres ejemplos para ilustrar el posible uso de marcadores.

### Las retrocruza s

La retrocruza es quizás el método de mejoramiento más utilizado por la seguridad que da para recuperar el tipo de planta deseada. La retrocruza sirve para manipular un número limitado de genes intensivamente e introducirlos en una variedad conocida. Si los genes que serán manipulados por retrocruza son lo suficiente valiosos, pueda que serán introducidos en un gran número de variedades y líneas, a tal punto que en futuras poblaciones los genes parezcan en la mayoría de los padres y ya segregan poco o nada en los progenies. Esto fue el caso, por ejemplo, con el gene I para resistencia a BCMV, que fue tan ampliamente utilizado en los programas de mejoramiento en el CIAT, que muchas cruza ya no involucraba ningún padre susceptible.

La retrocruza con un solo gen es muy sencillo, pero la retrocruza con genes múltiples es más compleja, ya que hay que tomar en cuenta la probabilidad de transmitir los genes deseados a la siguiente generación. Tomemos un ejemplo de 2 genes, Ay B. La probabilidad de transmitir cualquier de los 2 genes individualmente desde un heterocigoto (ej, la F1) sería 0.5, y la probabilidad de transmitir los 2 genes juntos en un solo gameto es (0.5 x 0.5), o sea, 0.25. Es decir, 0.25 de los gametos serían de tipo AB. Por tanto, hay que hacer suficientes polinizaciones para asegurar que algunos de estos gametos pasan a la siguiente generación. Se requiere unas 4 plantas para encontrar uno con los dos genes A y B (o más o menos el doble para asegurar la existencia de esta planta con una probabilidad en 90%). En cuanto el número de genes para retrocruzar aumente, el número de plantas necesarias aumenta exponencialmente. En la Tabla 2 aparece el número mínimo de plantas para poder transferir diferentes números de genes de un padre heterocigótico a su progenie.

Los marcadores pueden servir para identificar los genes que han pasado a las progenies, y así seleccionar las plantas que servirán como padres en otro ciclo de retrocruzamiento.

Para el frijol el paso limitante probablemente es la polinización, pues para cada polinización se puede esperar en promedio alrededor de 1 semilla híbrida (calculando una taza de éxito de 50% en las polinizaciones, y un promedio de dos semillas por vaina híbrida). Es relativamente fácil transferir

hasta 4 genes (con 16 a 36 polinizaciones) pero la polinización llega a ser limitante para transferir 5 o 6 genes, pues hay que producir entre 64 y 147 semilla híbrida para transferir 6 genes. Esto es factible en casos de alta prioridad, pero sería difícil hacerlo rutinariamente para varios genotipos. También para el uso de los marcadores, es factible la evaluación de este número de plantas pero sería difícil hacer rutinariamente con muchos materiales. Por ejemplo, para probar 100 progenies para 6 marcadores, se harían secuencialmente, probando 100 por el primer marcador, después entre los 50 progenies que tienen el marcador, se prueba el segundo, etc. En total, se requerirían unos 200 reacciones de PCR. En conclusión, tanto para la mecánica de retrocruzamiento como para la aplicación de los marcadores, 4 ó 5 genes son el límite para trabajo rutinario.

Qué oportunidades hay para utilizar marcadores para agilizar retrocruzamiento para el

frijol en Centroamérica? La resistencia a BGMV parece ser controlada por unos 4 genes relativamente más importante, y otros menores. Pronto debemos tener marcadores para estos 4 genes, y así podríamos practicar retrocruzamiento. Una posibilidad sería para introducir los genes de resistencia a BGMV a otros materiales fuentes de genes de gran interés, por ejemplo, fuentes para tolerancia a bajo fósforo o a sequía. Así se podría usar estos materiales en cruza sin diluir la resistencia al mosaico dorado. Igualmente, se podría mejorar las variedades criollas para BGMV con retrocruzamiento.

Otro uso de retrocruzas podría ser para aprovechar los 4 genes ya identificados para fijación de nitrógeno y provenientes de BAT 477, para mejorar FBN en cultivares ya establecidos. La mejora de la absorción de nutrientes en los cultivares, usando 4 genes de G19833 para un mejor sistema radicular, es otra opción.

**Tabla 2:** Números de plantas y polinizaciones requeridas para retrocruzar n genes simultáneamente.

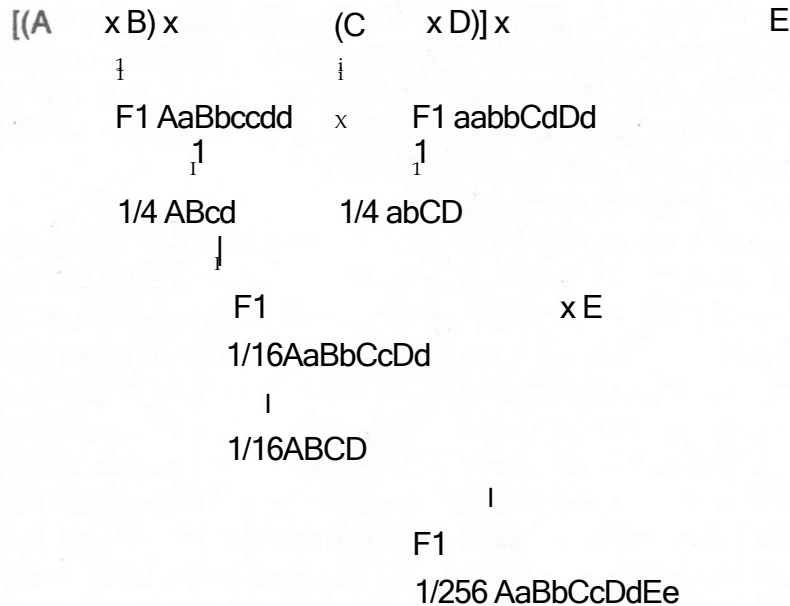
Número de Genes (n)	Número Mínimo de Plantas	Número de polinizaciones	Numero Mínimo de Plantas, 90% confianza
1	2	2	4
2	4	4	8
3	8	8	17
4	16	16	36
5	32	32	73
6	64	64	147
7	128	128	294
8	256	256	589

### **La Selección Gamética**

La Selección Gamética (SG) se ha comprobado como un método eficaz para reunir genes de diversas fuentes en poblaciones segregantes. El éxito de SG depende de la descendencia de los genes de interés a través de varias generaciones de cruzamiento. Si hubiera forma de confirmar la

presencia de los genes en las varias generaciones, esto aumentaría la eficacia de SG. Los marcadores moleculares pueden tener aplicación dentro de un plan de SG, para asegurar que los híbridos utilizados en cada generación como padres de cruza complejos tienen los genes deseados heredados de la generación anterior.

Pongamos un ejemplo. Suponemos que deseamos reunir 5 genes a través de la SG, y los 5 genes se encuentran en 5 padres distintos, 1 gen en cada padre. Se puede estructurar la cruce así.



En cada generación los gametos de los F1 segregan. Con referencia al gen de cada padre, la F1 (A x B) segrega 1/4 gametos que llevan los 2 genes de padres A y B, así también la F1 de C y D. Por tanto, entre los F1 [(A x B) x (C x D)] hay solo 1/16 que tienen todos los 4 genes. Esas pocas plantas a su vez segregan 1/16 de sus gametos con los 4 genes, así que hay solo 1 en 256 del último F1 que reciben los 4 genes A, B, C y D. Se ve que sería muy provechoso poder selección en cada generación (ej, entre los F1 [(A x B) x (C x D)] ) que tienen los genes deseados.

Esto sería una aplicación potencial para los marcadores. En este caso, se podría buscar entre los F1 [(A x B) x (C x D)] para identificar las plantas (1 en 16) de genotipo AaBbCcDd, para utilizar solo estos para crear la siguiente generación. Por igual, se podrían aplicar los marcadores en la última generación para identificar las de genotipo AaBbCcDdEe, y así asegurar que el trabajo de selección se enfoca en las familias de mayor potencial.

Consta que el resultado de aplicar SAM en el proceso de SG como se ha descrito arriba, es

producir una F1 con todos los genes deseados. Falta referimos a la aplicación de SAM en poblaciones segregantes de F2 en adelante. Selección negativa en generaciones tempranas.

Hay varias formas que uno puede visualizar el uso de marcadores en poblaciones segregantes: la evaluación de plantas individuales en F2 o F3; hasta la evaluación de marcadores en centenares o miles de líneas avanzadas. En estos casos enfrentamos el reto de aplicar una tecnología costosa y a veces dispendiosa en grandes números de plantas. Vamos a considerar una alternativa que podría ser relativamente económica. Involucra la selección negativa en generaciones tempranas, con el fin de aumentar la frecuencia de alelos favorables que a lo largo, tendrá un efecto muy significativo en las probabilidades de encontrar líneas superiores. Cuando pensamos en la selección negativa en generaciones tempranas, quizás nos parece ineficiente ya que el alto grado de heterocigocidad oculta los alelos no-deseados, especialmente si son recesivos. De hecho, si desarrollamos marcadores de PCR ligados a los alelos que queremos seleccionar, estos marcadores serán dominantes y los marcadores de los no-

deseados probablemente serán recesivos. Entonces, ¿qué ventaja hay en la selección negativa en generaciones tempranas?

Tomamos un ejemplo de 10 genes, y asumimos que en nuestra población base están segregando los dos alelos A y a en cada locus en proporción 1:1. Es decir, que hemos creado la F1 que contiene todos los alelos deseados (que no es poca cosa, como vemos en el análisis de la selección gamética), y que ya estamos confrontando el reto de cómo seleccionar dentro de la población segregante. Si avanzáramos la población por Descendencia de Semillas Únicas, necesitaríamos una población de 1,024 para encontrar solo una línea con los 10 genes. ¿Cómo podemos mejorar esta proporción? Observemos la Tabla 3 donde están representadas las cifras de unos datos simulados. Esencialmente, el objetivo es mantener los individuos en la población que tienen la posibilidad de segregar el genotipo con todos los genes deseados. Esto implica guardar tanto los genotipos homocigóticos para el alelo deseado (AA) como los heterocigóticos (Aa) pero en todos 10 loci.

En el F2 con referencia a cada locus, hay 0.75

probabilidad de encontrar AA ó Aa, y sobre los 10 loci, hay  $(0.75)^{10}$  ó 0.056 probabilidad de encontrar todos los loci en esta condición. En esta fase de la segregación, todavía hay más que 5% de la población con potencial de segregar los 10 genes favorables! No requiere una población F2 muy grande para encontrar varias plantas en esta condición.

Lo sorprendente es que con un solo ciclo de selección negativa (que por cierto ha eliminado 94% de la población) la probabilidad de segregar líneas con los 10 genes en generaciones avanzadas ya es mucho mayor, 0.016 en vez de 0.001 sin selección. Si aplicamos otro ciclo de selección por SAM, vemos todavía más efecto. Ahora 0.175 de la población es AA ó Aa en los 10 loci, y la población segregará más que 10% de las líneas con todos los 10 genes en generaciones avanzadas!

Falta probar este sistema de selección negativa para aumentar la frecuencia de los genes favorables en la población, sin embargo, esta podría ser una de las aplicaciones más efectivas de SAM en términos de costos y eficiencia. Esto podría ser un servicio importante del CIAT a los programas nacionales, el de proveer poblaciones ya pre-seleccionadas para genes claves.

Tabla 3: Selección negativa con marcadores contra el homocigoto aa en 10 loci y en tres generaciones: efectos en las frecuencias de alelos en cada generación y en la proporción de líneas avanzadas con los 10 genes deseados.

Generación	Segregación en cada locus	Proporción de población que es AA ó Aa para 10 loci	Frecuencias de alelos		Proporción líneas segregando con 10 genes deseados en generaciones avanzadas	
			Sin SAM	Con SAM	Sin SAM	Con SAM
F2	1AA:2Aa:1aa	$1(.75)^{10} = 0.056$	0.50 A: 0.50 a	0.66 A: 0.33 a	$(.50)^{10} = 0.001$	$(.66)^{10} = 0.016$
F3	3AA:2Aa:1aa	$(.84)^{10} = 0.175$	0.66A: 0.33a	0.80 A: 0.20 a	$(.66)^{10} = 0.016$	$(.80)^{10} = 0.107$
F4	7AA:2Aa:1aa	$(.90)^{10} = 0.349$	0.80 A: 0.20 a	0.89 A: 0.11a	$(.80)^{10} = 0.107$	$(.89)^{10} = 0.312$



## LOS PROXIMOS PASOS

A la luz de la situación de tener disponible un número creciente de marcadores para genes de interés para Centroamérica, y con algunos conceptos de como implementarlos, cuales son los próximos pasos en el desarrollo y uso de los marcadores? Podemos señalar 4 puntos que aún requieren atención.

1. Caracterizar los genes: Para tener confianza que un gen vale el esfuerzo para seleccionarlo dentro de un plan de SAM, hay que saber su verdadero valor. En el caso de un gen de resistencia, por ejemplo, esto implica saber el rango de cepas por las cuales un gen es efectivo. Para la sequía, sería útil saber cuales genes sirven para que tipo de ambiente o patrón de sequía. Así que se requiere el apoyo de otras disciplinas en el trabajo de caracterizar genes.
2. Poner prioridades para los genes a incluir en un plan de SAM: Es obvio que ya existen más marcadores de los que se pueden implementar efectivamente en un programa de mejoramiento. Cuales debemos usar? Obviamente depende de las prioridades de los caracteres en sí, y la facilidad de seleccionar los caracteres por medios convencionales. Pero también hay que poner prioridad entre genes para el mismo carácter, ó entre alelos en un solo locus. Para tomar esta determinación, hay que saber la magnitud del efecto del gen, en caso de un QTL. También es útil saber si el gen sufre de ligamientos no-deseables; en caso que sí, otro gen puede ser preferible.
3. Conversión aSCARs: Una vez que hay confianza que un gen es valioso para uso en el mejoramiento, su marcador debe ser convertido en un SCAR. Esto para facilitar su uso masivo y con seguridad en los resultados. El Dr Norman Weeden de la Universidad de Cornell está colaborando con nosotros en este sentido.
4. Mapeo de los genes de caracteres útiles con referencia a uno de los mapas establecidos: Este paso facilita el reconocimiento de ligamientos entre genes y así predecir si se pueden recombinar los genes con mayor o menor facilidad. Hasta ahora la mayoría de los marcadores mapeados no están relacionados con caracteres útiles, y la mayoría de los marcadores de genes útiles no están mapeados. Sin embargo, hay avances importantes en unir los varios mapas de marcadores (Freyre et al, en preparación) y este es un paso importante para mapear eventualmente los genes útiles. También, existe una base de datos de marcadores mapeados que es accesible por internet en <http://probe.nal.usda.gov:8000/plant/> o <http://probe.nal.usda.gov/cgi-bin/browse/beangenex> Varios mapas están disponibles en <http://agronomy.ucdavis.edu/gepts/geptsiab.htm>
5. Terminar de marcar genes de otros caracteres: Aún faltan caracteres para los cuales no existen marcadores, o de los cuales hay genes importantes para explorar. En el caso de la antracnosis, sabemos poco de los genes andinos, ni tenemos información genética de una excelente fuente mesoamericana, G2338. Todavía no hay ningún gen para mancha angular identificado, mucho menos marcado, aunque esperamos tener datos preliminares pronto. Además faltan marcadores para genes de tolerancia a sequía y a bajo fósforo. Los marcadores también están resultando muy útiles en otros cultivos para explorar la utilidad de genes exóticos provenientes de ancestros silvestres o variedades criollos primitivos.

## BIBLIOGRAFIA

- a. Adam-Blondon, A., M. Sévignac, H. Bannerot and M. Dron. 1994. SCAR, RAPD and RFLP markers tightly linked to a dominant gene (Are) conferring resistance to anthracnose in common bean. *Theor Applied Gen* 88:865-870.
- b. Alzate-Marin, A.L., Assis de Carvalho, G., Menarim, H., Soares B., G., de Pual J., T.J., Goncalves de B., E., and Alves M., M. 1997. Identification of RAPD markers associated with resistance to anthracnose in common bean. *Bean Improvement Coop Annl Rept* 40:130-131.
- c. Basset, M. 1996. List of Genes - *Phaseolus vulgaris* L. *Bean Improvement Coop Annl Rept* 39:1 -19.
- d. CIAT Annual Report. 1997.
- e. CIAT, datos no-publicados
- f. Freyre, R., Skroch, P., Adam-Blondon, A-F., Geffry, V., Shirmohamadali, A., Johnson, W.C., Llaca, V., Nodari, R.O., Pereira, P.A., Tsai, S-M., Tohme, J., Dron, M., Nienhuis, J., and Gepts, P. 1998. Towards an integrated linkage map of common bean. IV. Correlation among RFLP maps. In press.
- g. Gepts, P., R. Nodari, R. Tasi, E.M.K. Koinange, V. Uaca, R. Gilbertson and P. Guzman. 1993. Linkage mapping in common bean. *Ann Rept Bean Improv Coop* 36:xxiv-xxxviii.
- h. Gu, W.K., N.F. Weeden, D.H. Wallace, and S. Singh. 1993. A DNA marker for ppd, a gene conferring insensitivity to photoperiod in common bean. *Annual Rept Bean Improv Coop* 36:1-2.
- i. Gu, W., N. Weeden, J. Zhu, and D. Wallace. 1994. Identification of a DNA marker for Hr, a gene that interacts with Ppd to confer extreme photoperiod sensitivity. *Annual Rept Bean Improv Coop* 37:125-126.
- j. Haley, S.D., P.N. Miklas, J.R. Stavely, J. Byrum and J.D. Kelly. 1993. Identification of RAPD markers linked to a major rust resistance gene block in common bean. *Theor Applied Gen*.
- k. Haley, S., L. Afanador and J. Kelly. 1994. Selection for monogenic pest resistance traits with coupling- and repulsion-phase markers. *Crop Sci* 34:1061-1066.
- l. Haley, S.D., L. Afanador and J. Kelly. 1994. Identification and application of a random amplified polymorphic DNA marker for the I gene (Potyvirus resistance) in common bean. *American Phytopathological Society* 84:157-160.
- m. Johnson, W., P. Guzmán, D. Mandala, A. Mkandawere, S. Temple, R. Gilbertson and P. Gepts. 1997. Molecular tagging of the bc-3 gene for introgression into Andean common bean. *Crop Sci* 37:248-254.
- n. Jung, G., D. Coyne, P. Skroch, J. Nienhuis, E. Arnaud-Santana, J. Bokasi, H. Ariyaratne, J. Steadman, J. Beaver and S. Kaeppler. 1996. Molecular markers associated with plant architecture and resistance to common blight, web blight, and rust in common bean. *Journal of the American Soc of Hort Sci* 121: 794-803.

- o. Jung, G., P. Skroch, J. Nienhuis, and D. Coyne. 1997. Genomic analysis of chromosomal regions introgressed from tepary bean associated with CBB resistance in *Phaseolus vulgaris* L. Bean ImprovCoop Annual Meeting Abstracts. Annapolis, MD. November 4-7, 1997.
- p. Meiotto, M., L. Afanador and J. Kelly. 1996. Development of a SCAR marker linked to the *l* gene in common bean. *Genome* 39:1216-1219.
- q. Meiotto, M., L. Afanador and J. Kelly. 1997. SCAR markers linked to major disease resistance genes in common bean. Bean ImprovCoop Annual Meeting Abstracts. Annapolis, MD. November 4-7, 1997.
- r. Miklas, P.N., J.R. Staveland and J.D. Kelly. 1993. Identification and potential use of a molecular marker for rust resistance in common bean. *Theor Appl Gen* 85:745-749.
- s. Miklas, P.N., E. Johnson, V. Stone, J.S. Beaver, C. Montoya, and M. Zapata. 1996. Selective mapping of QTL conditioning disease resistance in common bean. *Crop Sci* 36(5): 1344-1351.
- t. Molina C., A., and J. Beaver. 1997. Inheritance of normal pod development in bean golden mosaic resistant common beans. Bean Improv Coop Annual Meeting Abstracts. Annapolis, MD. November 4-7, 1997.
- u. Nodari, R.O., S.M. Tsai, R.L. Gilbertson and P. Gepts. 1993. Towards an integrated linkage map of common bean. II. Development of an RFLP-based linkage map. *Theoretical and Applied Genetics* 85: 513-520.
- v. Nodari, R.O., S.M. Tsai, P. Guzmán, R.L. Gilbertson and P. Gepts. 1993. Towards an integrated linkage map of common bean. 3. Mapping genetic factors controlling host-bacteria interactions. *Genetics* 134:341-350.
- w. Schneider, K., M.E. Brothers, and J. Kelly. 1997. Marker-assisted selection to improve drought resistance in common bean. *Crop Sci* 37(1): 51-60.
- x. Olaya, G. 1995. Genetics of resistance to *Macrophomina phaseolina* in beans and influence of water potential on the pathogen and on disease development. Ph.D. thesis, Cornell University, Ithaca, NY.
- y. Urrea, C., P. Miklas, J. Beaver and R. Riley. 1996. Aco-dominant randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) marker useful for indirect selection of bean golden mosaic virus resistance in common bean. *Journal of the American Soc of Hort Sci* 121:1035-1039.
- z. Vallejos, E.C., N.S. Sakiyama and C.D. Chase. 1992. A molecular marker-based linkage map of *Phaseolus vulgaris* L. *Genetics* 82:353-357.
- A'. Young, R. and J. Kelly. 1997. RAPD markers linked to three major anthracnose resistance genes in common bean. *Crop Sci* 37:940-946.